

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
KEMANGI (*Ocimum Sanctum L.*) DAN DAUN PEPAYA (*Carica Papaya L.*)
TERHADAP SEL MCF-7**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Pada Jurusan
Farmasi Fakultas Farmasi**

Oleh:

AISYAH DEWI SAFITRI

K 100 130 149

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI AKTIVITAS ANTISITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
KEMANGI (*Ocimum Sanctum L.*) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)
TERHADAP SEL MCF-7**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

AISYAH DEWI SAFITRI

K 100 130 149

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Marvati, Ph.D., Apt

NIK.871

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
KEMANGI (*Ocimum Sanctum L.*) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)
TERHADAP SEL MCF-7**

OLEH

AISYAH DEWI SAFITRI

A 100 130 149

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Sabtu, 28 Desember 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Dewan Penguji:

- 1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt**
(Ketua Dewan Penguji)
- 2. Peni Indrayudha, Ph.D., Apt**
(Anggota I Dewan Penguji)
- 3. Maryati, Ph.D., Apt**
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,



Azis Saifudin, Ph.D., Apt

NIK. 956

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 28 Desember 2018

Penulis



AI SYAH DEWI SAFITRI

K 100 130149

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.) TERHADAP SEL MCF-7

Abstrak

Kanker payudara adalah kanker yang paling banyak menyebabkan kematian di negara maju ataupun berkembang seperti Indonesia. Tanaman kemangi dan daun pepaya dikatakan berpotensi sebagai alternatif pengobatan kanker payudara. Penelitian sebelumnya menyebutkan kemangi dapat menghambat pertumbuhan sel kanker sebesar daun pepaya sebesar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik kombinasi ekstrak etanol kemangi dan daun pepaya. Ekstraksi kemangi dan daun pepaya dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Uji sitotoksik menggunakan metode MTT assay dengan ekstrak tunggal dan kombinasi perbandingan (1:1) dan dibuat 5 seri konsentrasi 500 ; 250 ; 125 ; 67,5 ; 37,25 µg/mL. Absorbansi hasil uji dibaca menggunakan alat ELISA reader dengan λ595nm. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol kemangi dan kombinasi memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel mcf -7 dengan IC₅₀ berturut-turut 160,286 ; 187,426 µg/mL, sedangkan ekstrak etanol pepaya dengan IC₅₀>1000 µg/mL dikatakan tidak memiliki aktivitas sitotoksik .

Kata Kunci: *Ocimum sanctum* L., *Carica papaya* L, sitotoksik, MCF-7

Abstract

Breast cancer is the cancer that causes the most deaths in developed or developing countries like Indonesia. Basil and papaya leaves are said to be potential as an alternative treatment for breast cancer. Previous research mentioned basil can inhibit the growth of cancer cells as large as and papaya leaves as much as. This study aims to determine the cytotoxic effects of a combination of ethanol extract of basil and papaya leaves. Extraction of basil and papaya leaves was carried out using 96% ethanol. Cytotoxic tests used the MTT assay method with a single extract and a combination of comparisons (1: 1) and made 5 series concentrations of 500; 250; 125; 67.5; 37.25 µg / mL. The absorbance of the test results is read using the ELISA reader λ595nm. Cytotoxic test results showed that basil and combination ethanol extracts had cytotoxic activity against MCF-7 cells with IC₅₀ of 160,286; 187,426 µg / mL, while the papaya ethanol extract with IC₅₀>1000 µg / mL was said to have no cytotoxic activity.

Keywords: *Ocimum sanctum* L., *Carica papaya* L, cytotoxic, MCF-7

1. PENDAHULUAN

Kanker payudara menurut data GLOBOCAN tahun 2012 adalah penyakit dengan tingkat persen tertinggi yaitu sebanyak 43,3% .Praktisi medis memiliki tiga metode pengobatan untuk kanker yaitu bedah,radiasi,dan kemoterapi (Arifianti *et al.*, 2014). Pengobatan tersebut masih menimbulkan efek samping yang merugikan (Chitwood *et al.*, 2013), sehingga perlu dikembangkan obat anti kanker yang dapat mematikan sel kanker tanpa merusak jaringan yang normal.Obat antikanker sekarang ini belum memenuhi kriteria tersebut, sehingga tanaman obat diharapkan dapat menjadi salah satu

alternatif dalam pengobatan kanker (Srisadono, 2008). Tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat anti kanker yaitu kemangi (*Ocimum sanctum L.*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*).

Ocimum sanctum daun mengandung eugenol, asam ursolat, carvacrol, linalool, limatrol, caryophyllen dan antosianin. Eugenol adalah salah satu senyawa mayor dari ekstrak daun kemangi yang memiliki aktivitas antikanker yang bekerja dengan mengganggu proses pengiriman sinyal dari sel kanker (Khuda-Bukhs AR *et al.*, 2014). Uji sitotoksik ekstrak daun kemangi secara *in vitro* terhadap sel MCF-7 memiliki IC₅₀ sebesar 6,95 µg/mL (Amalia *et al.*, 2016).. Pada penelitian lain ekstrak etanol kemangi dapat menghambat berkembangnya sel NCL-H460 melalui mekanisme penghambat induksi apoptosis (Sridevi, 2016).

Carica papaya merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai tanaman obat. Kandungan fitokimia yang memiliki aktivitas sebagai antikanker adalah alkaloid dan senyawa fenolik. Berdasarkan beberapa penelitian mengatakan bahwa pepaya memiliki aktivitas antikanker, oleh (Amalia *et al.*, 2016) ekstrak daun pepaya memiliki aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7 dengan IC₅₀ sebesar 17,40 µg/mL. Daun pepaya dapat meningkatkan ekspresi TLR-7, TLR-9 dan menurunkan ekspresi COX-2 dan mengandung antioksidan dalam menghambat sel kanker payudara melalui mekanisme penghambatan proliferasi sel, induksi apoptosis, meningkatkan aktivitas enzim SOD dan GPx, menurunkan inflamasi dan meningkatkan respon imun (Zuhrotun Nisa *et al.*, 2017). Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksik kombinasi ekstrak etanol kemangi dan pepaya untuk melihat sinergitas kombinasi ekstrak terhadap sel MCF-7 secara *in vitro*.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat yang digunakan

Blender, bejana maserasi, neraca analitik (Santorius), *rotary evaporator*, *waterbath* (Heidolph), alat-alat gelas (pyrex), oven, labu takar, mikroskop (Binder), inkubator CO₂, *counter*, *Laminar air flow* (LAF) (Isocide TM), *tissue culture flask*, *96-wellplate*, mikropipet, *ependorf*, *Conical tube*, *Elisa reader* (Elx800 Bio Tech).

2.1.2 Bahan yang digunakan

Kemangi dan daun pepaya di peroleh dari Pasar Legi Surakarta, sel MCF-7 yang diperoleh dari koleksi laboratorium kultur sel mamalia Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Etanol 96%, MediaDMEM, FBS 10%, PBS(*phosphate buffer salin*), MTT 5mg/mL dalam PBS, SDS 10% (*Sodium Dodecyl Sulfate*), DMSO 1% dalam HCl 0,01 N, tripsin-EDTA (tripsin 0.25%), PBS (Phospate buffered saline).

2.2 Cara kerja

2.2.1 Ekstraksi

Kemangi dan daun pepaya yang telah diserbuk dan diayak, kemudian masing-masing serbuk dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 hari dan setiap hari dilakukan pengadukan, ekstrak cair disaring dengan bantuan vakum, dilanjutkan dengan evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 60°C, dan uapkan di waterbath dengan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak yang kental.

2.2.2 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji ekstrak tunggal

Hasil penimbangan ekstrak etanol kemangi 10,3 mg dilarutkan dalam 150µL DMSO dan ekstrak etanol pepaya sebanyak 10,2 mg dilarutkan dalam 200µL, dilarutkan hingga homogen kemudian ditambah media DMEM hingga 10mL, dari larutan tersebut dibuat seri konsentrasi 500µg/mL; 250µg/mL; 125µg/mL; 62,5µg/mL dan 31,25µg/mL Seri kadar larutan uji dibuat dari ladilarutkan hingga homogen kemudian (CCRC, 2010).

Pembuatan larutan uji ekstrak kombinasi

Hasil penimbangan ekstrak etanol kemangi 10,1 mg dan ekstrak daun pepaya 10,2 mg , kemudian dicampur dan dilarutkan dengan 300µL DMSO, dilarutkan hingga homogen dan ditambahkan media sampai 10 mL, selanjutnya dibuat seri konsentrasi 500µg/mL; 250µg/mL; 125µg/mL; 62,25µg/mL; 31,25µg/mL.

2.2.3 Uji Sitotoksik Menggunakan MTT

Sel MCF-7 kepadatan 10^4 , didistribusikan kedalam sumuran-sumuran sebanyak 100 µL pada 96-*wellplate* diinkubasi semalam kemudian diberi perlakuan ekstrak uji pada berbagai kadar diatas dan diinkubasikan selama 24 jam. Kontrol sel digunakan 100µL suspensi sel ditambahkan ke dalam

sumuran yang telah berisi 100 μ L media DMEM, untuk blanko ditambahkan 100 μ L suspensi sel kedalam sumuran yang telah berisi DMSO dan media DMEM. Sel diinkubasi menggunakan inkubator aliran 5,0% CO₂ pada suhu 37°C. Setelah inkubasi setiap sumuran ditambahkan 100 μ L MTT sebanyak 5mg/mL dalam PBS steril, kemudian *plate* di inkubasi lagi selama 2 jam dengan suhu 37°C aliran CO₂ 5,0%. Enzim reduktase suksinat pada sel hidup akan merubah MTT menjadi kristal formazan yang tidak larut. Reaksi dihentikan dengan reagen stoper SDS dalam HCL 0,01 N dan di inkubasi semalam pada suhu kamar. Serapan dibaca menggunakan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 594 nm (Junedy *et al.*,2009). Menurut (Haryoto *et al.*,2015) semakin besar absorbansi maka semakin banyak sel yang hidup.

2.2.4 Analisis Data

Hasil absorbansi dari presentasi sel hidup dihitung menggunakan rumus tertentu. Hubungan regresi linier antara log konsentrasi dengan % sel hidup dicari, kemudian akan didapatkan persamaan $y=bx+a$. Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan mensubstitusi nilai 50 pada Y, sehingga di peroleh nilai x dan nilai IC₅₀ yang berasal dari antilog x. Berikut adalah rumus perhitungan % sel hidup.

Jika absorbansi kontrol pelarut sama dengan kontrol sel, maka presentase sel hidup dihitung dengan

$$\text{rumus : \% sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi

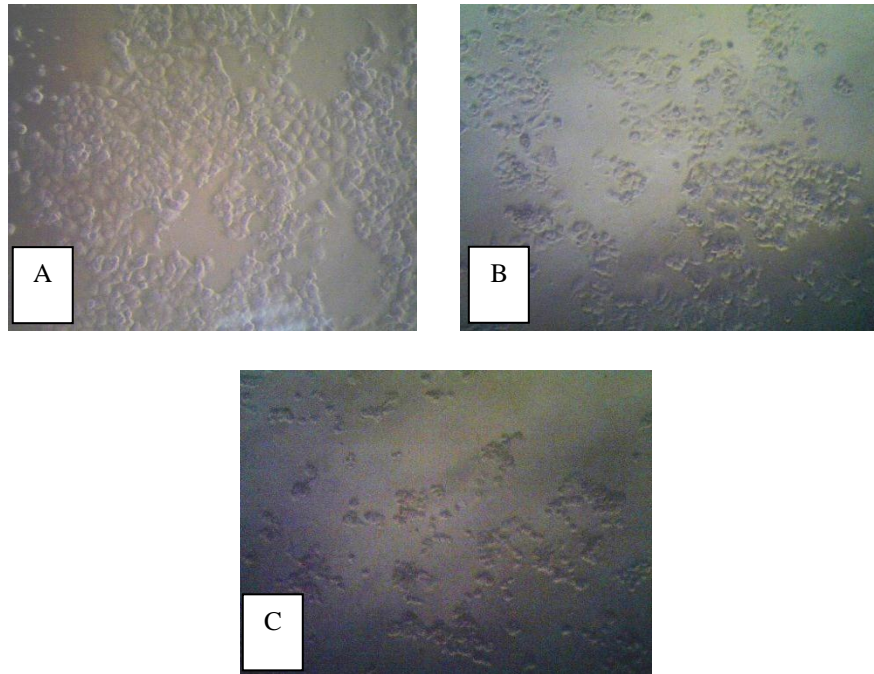
Ekstraksi kemangi dan daun pepaya menggunakan metode yang paling mudah dan sederhana yaitu maserasi karena maserasi cocok untuk bahan yang termolabil atau tidak tahan panas (Malik dan Ahmad, 2015), juga menghasilkan rendemen yang cukup tinggi (Nirwana *et al.*,2015). Pada penelitian ini digunakan etanol 96%, karena etanol 96% dapat menyari senyawa metabolit sekunder dalam tiga kali maserasi dan daya ekstraksinya yang luas (Azizah dan Salamah, 2013; Saifudin, 2014). Pada tabel 1 dapat dilihat hasil ekstraksi didapatkan rendemen kemangi sebesar 12,02% dan daun pepaya sebesar 16,81% .

Tabel 1. Rendemen ekstrak etanol kemangi dan daun pepaya

No	Keterangan	kemangi	Pepaya
1	Berat sampel (gram)	92,8	176
2	Berat ekstrak kental (gram)	11,16	29,74
3	Rendemen	12,02 %	16,81%

3.2 Uji sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji untuk mengukur ketahanan sel kanker MCF-7 jika diberikan senyawa antikanker. MTT assay merupakan *gold-standart* dari uji sitotoksik (Tonder *et al.*, 2015). Prinsip dari Metode MTT assay adalah pemecahan garam tetrazolium (MTT) menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat reduktase yang terdapat pada jalur respirasi mitokondria pada sel yang hidup, dengan penambahan reagen stopper SDS dalam HCl kristal formazan menjadi larut sehingga sehingga absorbansi dapat dibaca menggunakan ELISA reader. Menurut (Fitriasari *et al.*, 2009) semakin pekat warna ungu maka semakin banyak jumlah sel yang hidup.

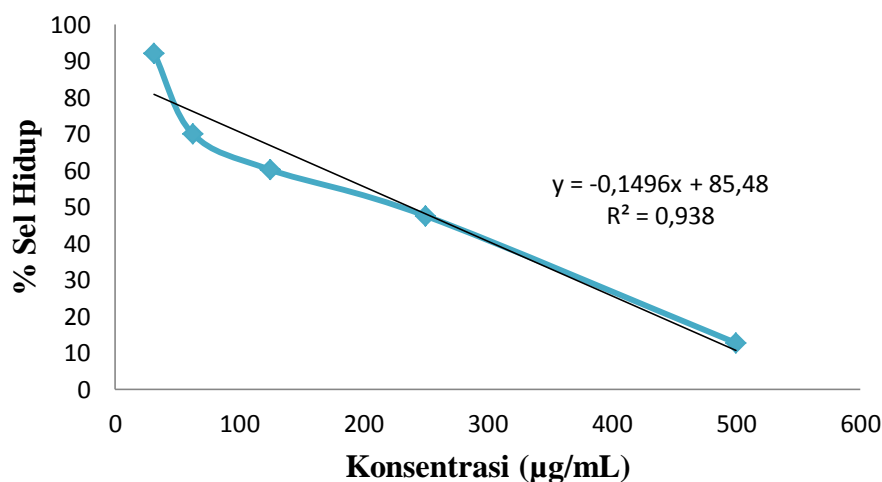


Gambar 1. Morfologi sel MCF-7 sebelum diberi perlakuan (A) sel MCF-7 yang telah diberi perlakuan ekstrak kombinasi konsentrasi 500µg/mL (B) sel MCF-7 setelah diberi larutan MTT (C)

Sel MCF-7 sebelum diberikan perlakuan terlihat berkelompok dan bentuknya bulat , warna lebih terang namun setelah diberikan perlakuan terlihat perubahan morfologi dari sel MCF-7 (Gambar 1). Sel yang hidup memiliki karakteristik lebih padat, dan terang sedangkan sel yang mati akan berwarna gelap, tidak beraturan dan memiliki kepadatan yang lebih rendah (Djajanegara and Wahyudi, 2009). Pada gambar A sel terlihat lebih padat, dan berwarna lebih terang sedangkan pada Gambar B sel terlihat sel yang mati berwarna lebih gelap dan tidak terlalu padat setelah diberi perlakuan ekstrak kombinasi dengan konsentrasi tertinggi. Gambar C sel diberi pereaksi MTT atau garam tetrazolium sehingga terbentuk kristal formazan.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan ekstrak etanol kemangi terhadap sel mcf-7

Konsentrasi (µg/mL)	Log konsentrasi	% sel hidup				SD
		Data 1	Data 2	Data 3	Rata-rata	
500	2,699	16,342	11,094	10,645	12,694	3,167
250	2,398	48,876	41,679	52,024	47,526	5,303
125	2,097	59,070	57,421	64,018	60,170	3,433
62,5	1,796	70,615	64,018	75,262	69,965	5,650
31,25	1,495	91,004	86,357	99,100	92,154	6,449



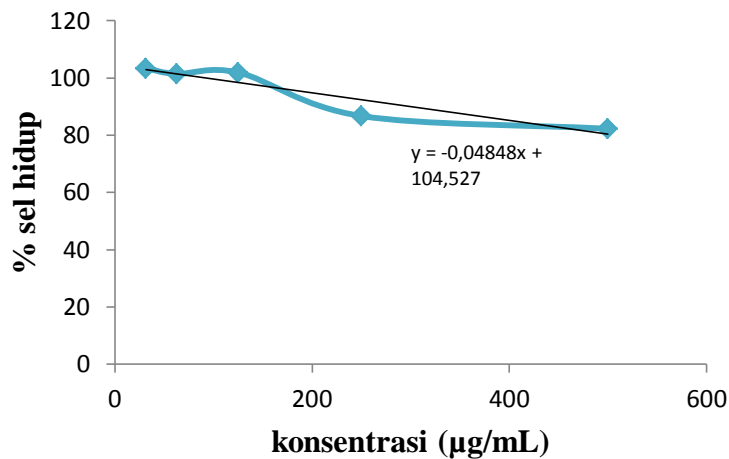
Gambar 2. Pengaruh ekstrak etanol kemangi pada sel MCF-7

Kemangi merupakan tanaman yang mengandung asam ursolat yang memiliki aktivitas sebagai anti sitotoksik. Dari penelitian (Las, 2001) asam ursolat merupakan golongan senyawa terpenoid (triterpen). Ekstrak dapat dikatakan berpotensi sebagai anti sitotoksik kuat jika memiliki nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ dan moderate jika IC_{50} 100-1000 $\mu\text{g/mL}$ (Prayong *et al.*, 2008).

Pada Tabel 2 menunjukkan hasil uji sitotoksik tunggal ekstraksi daun kemangi yang memiliki aktivitas sebagai ekstrak untuk antikanker kategori sedang dengan IC_{50} sebesar 160,286 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian ini berbeda dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa kemangi tidak memiliki aktivitas sebagai antikanker (Helvira., 2018). Penelitian lain menyebutkan kadar IC_{50} berbeda dengan penelitian sebelumnya yang memiliki kadar tinggi sebesar 6,95 $\mu\text{g/mL}$ (Amalia, 2016). Pada gambar nomer 2 dapat diamati semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kemangi yang ditambahkan maka % (persen) sel hidupnya akan semakin rendah.

Tabel 3. Pengaruh ekstrak etanol daun pepaya dalam berbagai kadar terhadap sel hidup mcf-7

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log konsentrasi	% sel hidup				SD
		Data 1	Data 2	Data 3	Rata-rata	
500	2,699	91,604	78,711	77,961	82,759	7,670
250	2,398	79,610	94,153	86,357	86,707	7,278
125	2,097	97,001	105,847	102,399	101,749	4,458
62,5	1,796	110,045	90,855	103,448	101,449	9,750
31,25	1,495	105,397	92,654	111,994	103,348	9,832



Gambar 3. Pengaruh ekstrak etanol pepaya pada sel MCF-7

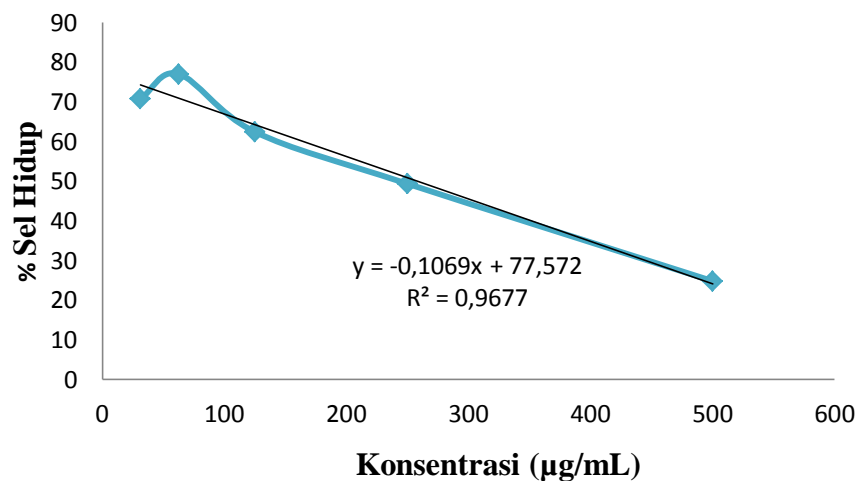
Ekstrak etanol pepaya berdasarkan beberapa penelitian lain memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker seperti HeLa (sel kanker serviks) sebesar 40,868 µg/mL (Seran, 2012), dan MCF-7 (sel kanker payudara) sebesar 17,40 µg/mL (Amalia., 2016), namun jika dilihat dari hasil penelitian tersebut aktivitas sitotoksiknya lebih kuat MCF-7 dibandingkan dengan HeLa. Kandungan flavonoid yang dimiliki ekstrak daun pepaya yaitu kuersetin yang dapat memblokir transisi pada fase S ke G2/fase M pada siklus sel MCF-7 (Choi., *et al* 2001).

Pada tabel 3 hasil uji sitotoksik ekstrak etanol pepaya memiliki % sel hidup yang tinggi meski pada konsentrasi tertinggi yaitu 500 µg/mL, dan IC₅₀ yang diperoleh yaitu sebesar >1000 µg/mL, dapat dikatakan pada penelitian ini ekstrak etanol pepaya tidak memiliki efek sitotoksik dan hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang memperoleh IC₅₀ kategori kuat yaitu 17,40 µg/mL.

Perbedaan signifikan antara penelitian lain dengan penelitian ini salah satunya disebabkan oleh varietas daun pepaya. Menurut (Nisa *et al.*, 2017) daun pepaya yang memiliki varietas lain seperti yaitu, pepaya emas, pepaya bangkok, pepaya california, dan pepaya grandel. Pepaya grandel memiliki kandungan flavonoid tertinggi dibandingkan pepaya jenis lainnya.

Tabel 4. Pengaruh ekstrak etanol kemangi dan daun pepaya dalam berbagai kadar terhadap sel hidup mcf-7

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log konsentrasi	% sel hidup				SD
		Data 1	Data 2	Data 3	Rata-rata	
500	2,699	31,034	17,541	25,787	24,788	6,802
250	2,398	51,874	52,474	43,628	49,325	4,943
125	2,097	56,822	66,117	64,318	62,419	4,930
62,5	1,796	78,261	78,111	77,361	77,911	0,482
31,25	1,495	76,012	70,165	66,117	70,765	4,975



Gambar 4. Pengaruh Ekstrak etanol kemangi dan daun pepaya terhadap sel MCF-7

Hasil uji sitotoksik kombinasi pada penelitian ekstrak etanol kemangi dan ekstrak pepaya ini mendapatkan IC_{50} kategori moderat yaitu $187,425 \mu\text{g/mL}$. Hasil IC_{50} yang di dapat pada ekstrak kombinasi lebih rendah daripada IC_{50} ekstrak tunggal kemangi, namun lebih tinggi di bandingkan hasil ekstrak etanol pepaya yang memiliki $\text{IC}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, penurunan yang terjadi pada ekstrak kombinasi boleh jadi disebabkan oleh ekstrak tunggal dari kemangi. Penelitian ini tidak mendapat hasil yang sinergis karena ekstrak etanol kemangi memiliki efek sitotoksik sedangkan ekstrak etanol pepaya tidak memiliki efek.

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian nilai IC_{50} ekstrak etanol dari kemangi, daun pepaya dan kombinasi ekstrak etanol kemangi-daun pepaya adalah $160,286$; >1000 ; $187,425 \mu\text{g/mL}$. Perlu di lakukan identifikasi senyawa dan uji ekstrak tunggal kemangi dan pepaya sebelum dibuat kombinasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, L., Sukadirman, Studiawan, H., Rakhmawati, & Megawati, L. (2014). Ekstrak biji Sirsak (*Annoma muricata* L.) Terhadap Sel Kanker Mamalia Secara Invitro. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kesehatan Indonesia*, 1(2).
- Ahmad. A.R., juwita, Ratulangi, S., & Malik, A. (2015) Penetapan kadar fenolik dan flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikila (*Etlingera elatior* (jack) R.M.SM) *pharm Sci Res*, 2407-2354.
- Amalia P.K., 2016, *uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun keladi tikus (typonium flagelliforme l.), kemangi (ocimum sanctum l.), dan pepaya (carica papaya l.) terhadap sel mcf-7*, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Azizah B. And Salamah N., 2013, Standarisasi Parameter Non Spesific Dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ektrak Etanol Dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 3(1), 21-30.
- CCRC FF UGM, 2010b, Prosedur Tetap Pembuatan Media, *Cancer Chemoprevention Research Center*, 1–5.
- CCRC FF UGM, 2010c, Prosedur Tetap Perhitungan Sel, *Cancer Chemoprevention Research Center*, 1–4.
- CCRC FF UGM, 2012, Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT, *Cancer Chemoprevention Research Center*, 1–7
- Chitwood, K., Etzkorn, J., & Cohen, G. (2013). Topical and intralesional treatment of nonmelanoma skin cancer: Efficacy and cost comparisons. *Dermatol. Surg*, 39, 1306–1316.
- Choi YC, Menlisa L.S. Man, Karen K.Y. Ling, Nancy Y. Ip, Joseph simon, Eric A., 2001, expression of the p2y1 Nucleotide Reseptor in chick Muscle : its functional role in the regulation of Acetylcholinesterase and Acetylcholine Reseptor
- Djajanegara I.R.A and Wahyudi P., 2009, Pemakaian sel HeLa dalam uji stitotoksisitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*, *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 7(1), 7-11
- Fitriasari A., Dewi D., Ikawati M, and Meiyanto E, 2009, *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*, Cancer Cemoorevention Reaserch Center Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Haryoto, Irjayanti A.N., Suhendi A. and Sujono T.A., 2015, Molecular Biology Cytotoxic Activity of Polar, Semipolar, and non polar Fraction of Ethanol Ekstract of Sala Plants Leaves (*Cynometra ramiflora* Linn.) Againts widr Cell. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Puspasari Helvira, 2018, uji sitotoksik kombinasi ekstrak etanol kemangi (*Ocimum sanctum* L) dan Lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel MCF-7. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Junedi S., Dewi D., Ikawati M. and Meiyanto E., 2009, *Prosedur Tetap Preparasi Sampel*, *Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi Ugm*, Yogyakarta
- Khuda-bukhsh A.R., Das S., Saha S.K., Khuda-bukhsh A.R., Das S. and Saha S.K., 2014, Molecular Approaches Toward Targeted Cancer Prevention with Some Food Plants and Their Products : Inflammatory and Other Signal Pathways with Some Food Plants and Their Products : Inflammatory, (October), 37–41
- Sridevi M., Bright John., Yamini K., 2016, Anticancer Effect of *Ocimum sanctum* Ethanolic Extract In Non Small cell Lung Carcinoma Cell Line. Departement of Biotechnology, Vinayaka Vissions Univercity.

- Nirwana A.P., Atsirin O.P and Widiyani T., 2015 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Karsin (*Dendrophloe pentandra* L.Miq.), EL-VIVO, 3 (2)
- Nisa F.Z., Astuti M., Haryana SM and Murdiati 2017, correlation between Antioxidant Activity , Total flavonoid and Green Colkour Index, Bitternes Value of Carica papaya Leaves, The International Journal of science and thecnolodge 5(3), 113-117
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, konsep dan Teknik Pemurnian*, 1st ed., Deepublish, Yogyakarta.
- Seran, Yunita Chrystalin., 2012 Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Pepaya (carica papaya L.) Terhadap sel Kanker Serviks (*Hela Cell Line*). Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- Srisadono, 2008, *Skrining Awal Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper Betle Linn) Sebagai Antikanker Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test.*, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- Syafhan, 2005, *Uji Sitotoksitas Sediaan Jadi Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boert) terhadap Sel MCF-7 (sel kanker payudara) secara in vitro*, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
- Tonder A. Van, Joubert A.M. and Cromarty A.D., 2015, *Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays*, 1–10.
- .Olivia H. Neibaho, Paulina V., Y. Yamlan, Weny Wiyono (2013). Pengaruh basis salep pada sediaan salep ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) pada kulit punggung kelinci yang dibuat infeksi *Staphylococcus Aureus*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Satn Ratulangi Manado.
- Weda Kusuma., 2010, *efek ekstrak daun kemangi (Ocimum sanctum L) terhadap kerusakan heposit mencit akibat minyak kelapa sawit dengan pemanasan berulang.* Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Zuhrotun Nisa, Mary Astuti, Sofia M.H, Agnes Murdiati, (2017) Potensi Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai antioksidan dalam penghambatan kanker payudara. Program studi S3 Fakultas Kedokteran UGM.